



# Molekulare Strukturbiologie

## Entdeckungsreise zu den Landschaften des Lebens

# Molecular Structural Biology

## Expedition to the Landscapes of Life

Prof. Dr. Wolfgang Baumeister



Prof. Dr. Wolfgang Baumeister

baumeist@biochem.mpg.de  
www.biochem.mpg.de/baumeister

**T***erra incognita*: Anders als im Atlas unseres Planeten finden sich im zellulären Nanokosmos noch viele weiße Flecken. Die fragile Architektur großer, aus zahlreichen Untereinheiten aufgebauter Proteinkomplexe ist nicht nur besonders schwer zu entschlüsseln, ihre Isolation und Aufreinigung reißt sie auch aus ihrem funktionellen Zusammenhang. Wolfgang Baumeister und seine Mitarbeiter in der Forschungsabteilung „Molekulare Strukturbiologie“ haben eine Methode entwickelt, solche Strukturen im Kontext intakter Zellen mit hoher räumlicher Auflösung zu untersuchen: die Kryoelektronentomographie. Dabei werden ganze Zellen oder Zellorganellen blitzartig ‚schockgefroren‘. Eingebettet in glasartiges Eis bleibt die fragile Zellarchitektur unverändert erhalten. Anschließend werden aus verschiedenen Blickwinkeln zweidimensionale Bilder aufgenommen, aus denen dann ein dreidimensionales Bild rekonstruiert wird.

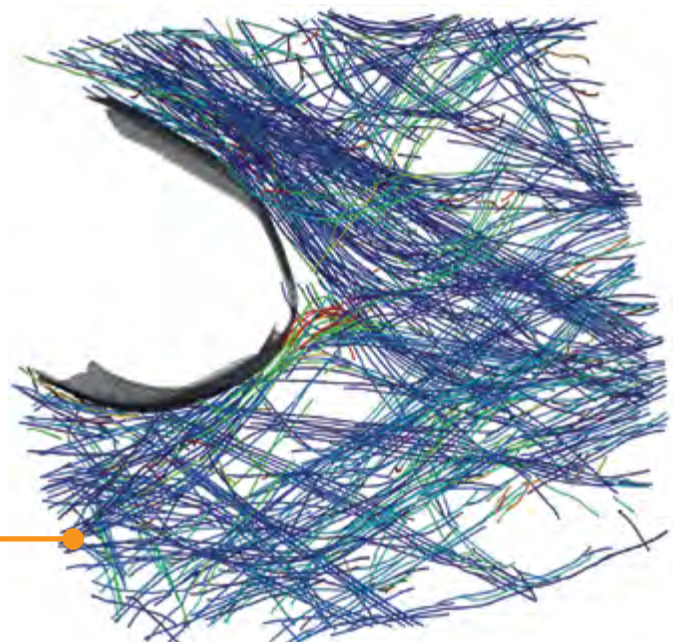
In jeder Zelle arbeiten unzählige molekulare Maschinen unablässig daran, lebenswichtige Prozesse in Gang zu halten. Dazu gehören die zellulären Proteinfabriken, Ribosomen genannt, ebenso wie die Proteasomen, die dann übernehmen, wenn Proteine defekt oder überzählig sind. In einem streng regulierten und hochselektiven Prozess bauen sie die Moleküle ab, bevor sie der Zelle schaden können und verwenden deren Bestandteile wieder.

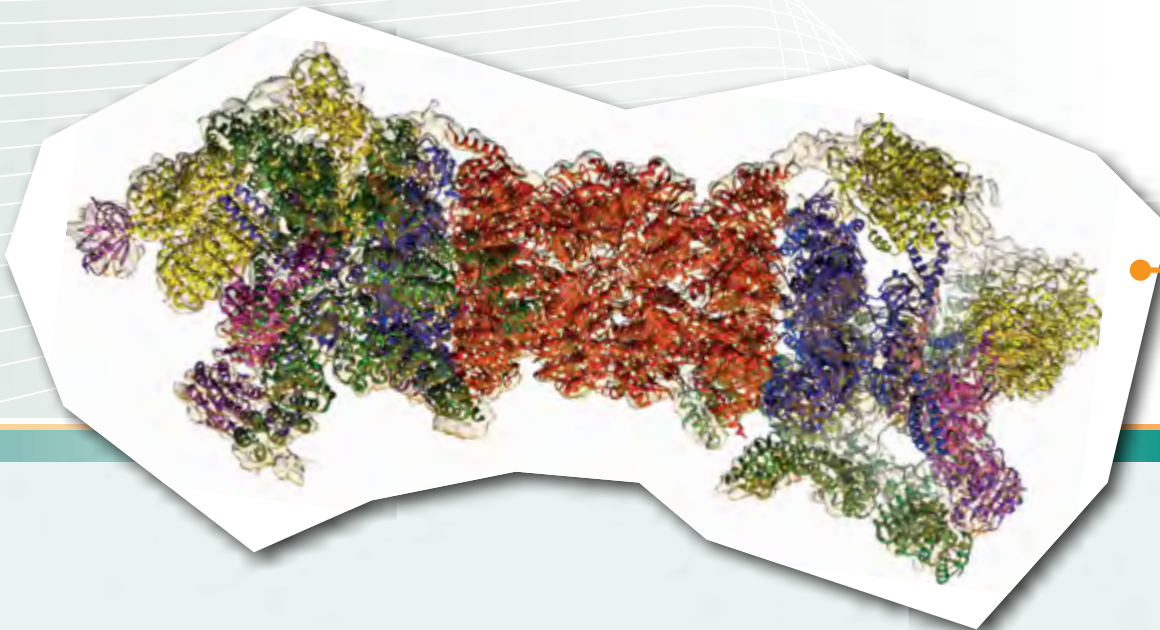
**T***erra incognita*: Unlike the map of our planet, which contains nearly no “white spots” or unexplored areas, the cellular nanocosmos contains many of these. The fragile architecture of large protein complexes consisting of numerous subunits is not only very difficult to decipher, the process of isolating and purifying the proteins also separates them from their functional context. Wolfgang Baumeister and his staff in the Research Department “Molecular Structural Biology” have developed a method to study such structures in the context of intact cells with high spatial resolution: cryo-electron tomography. Using this method, whole cells or cell organelles are flash frozen. The fragile cell architecture is embedded in vitreous ice and is thus retained unchanged. Two-dimensional images are subsequently taken from multiple directions and then reconstructed into a three-dimensional image.

In each cell, countless molecular machines are constantly working to maintain vital processes. These include ribosomes, which act as cellular protein factories, and proteasomes, which take over when proteins are defective or redundant. In a strictly regulated and highly selective process, they degrade the molecules and then recycle the cellular components before they can damage the cell.

Listerien sind infektiöse Bakterien, die in Zellen des befallenen Organismus eindringen, sich in ihnen fortbewegen und in Nachbarzellen vordringen können. Dazu regen sie die Wirtszelle an, ein dreidimensionales Netz von Proteinfilamenten (Aktin) zu bilden und kontinuierlich wachsen zu lassen. Es schiebt die Listerien voran und bringt sie in angrenzende Zellen. Erst die Darstellung der natürlichen Anordnung des Aktinnetzwerks mittels Kryoelektronentomographie kann den Mechanismus der passiven Bewegung erklären. Die Orientierung der Filamente ist im Bild farbkodiert, die Zellhülle des Bakteriums (grau) angedeutet.

*Listeria* are infectious bacteria that can penetrate cells of the infected organism, move within them and enter neighboring cells. They stimulate the host cell to form and continuously grow a three-dimensional network of protein filaments (actin). It pushes the *Listeria* forward and brings them into adjacent cells. Only the cryo-electron tomography representation of the natural arrangement of the actin network can explain the mechanism of passive movement. The orientation of the filaments is color-coded, the cell envelope of the bacterium is indicated in grey.





Die vielfältigen Funktionen der molekularen Maschinen erschließen sich nur über deren Struktur. Baumeister's Team konnte mit Hilfe der Kryoelektronentomographie die übergeordnete Organisation der Ribosomen (Polysomen) in der Zelle und die Struktur des 26S Proteasoms, einer hochkomplexen molekularen Maschine, bestehend aus 66 Einzelproteinen, darstellen. Daneben untersucht die Abteilung die Poren der Hülle des Zellkerns sowie Synapsen, also die Kontaktstellen zwischen Nervenzellen. Weitere Schwerpunkte sind das Zytoskelett, das der Zelle Struktur und Beweglichkeit verleiht und gerichtete Transportvorgänge ermöglicht, sowie toxische Proteinaggregate, die vor allem mit neurodegenerativen Krankheiten wie Alzheimer und Parkinson assoziiert sind.

Neue Technologieentwicklungen, von der Probenpräparation über die Datenaufzeichnung bis hin zur Bildanalyse, haben zum Ziel, die gesamte Zelle und das Zusammenspiel ihrer Bestandteile mit einer bisher unerreichten Auflösung von einem Nanometer – also einem Millionstel Millimeter – darzustellen. Schon jetzt erfasst die ‚Liveschaltung‘ in die Zelle auch flüchtige Wechselwirkungen von Molekülen. Dank der Entwicklung einer neuen Präparationsmethode für die Kryoelektronentomographie sind die Forscher nicht mehr auf kleine Zellen oder dünne Randbereiche größerer Zellen beschränkt. Ein fokussierter Ionenstrahl schneidet auch in bislang unzugängliche Zellbereiche winzige Fenster – für neue ‚eiskalte‘ Einblicke.

The various functions of the molecular machines can only be deduced from their structure. By means of cryo-electron tomography, Baumeister's team was able to visualize the superordinate organization of the ribosomes (polysomes) in the cell and the structure of the 26S proteasome, a highly complex molecular machine consisting of 66 individual proteins. In addition, the research department is investigating the pores of the cell's nuclear membrane as well as synapses, the contact points between nerve cells. Other research activities focus on the cytoskeleton that gives the cell structure and motility and enables directed transport processes as well as on toxic protein aggregates that are mainly associated with neurodegenerative diseases such as Alzheimer's and Parkinson's.

New technological developments in sample preparation, data recording and image analysis are aimed at imaging the whole cell and the interaction of its enclosed components with an unprecedented resolution of one nanometer – a millionth of a millimeter. Already now, this live cell imaging technique captures ephemeral interactions of molecules. Thanks to the development of a new sample preparation method for cryo-electron tomography, the researchers are no longer confined to small cells or thin marginal areas of larger cells. A focused ion beam cuts tiny windows into previously inaccessible cell areas – for new, 'ice cold' insights.

Endstation für Proteine:  
Das 26S Proteasom ist eine molekulare Maschine, die defekte oder nicht mehr benötigte Proteine zerkleinert. Den Abbau bewerkstelligt der zentrale Komplex, das 20S Proteasom, das von Prokaryoten bis zu höheren Eukaryoten aus 28 Untereinheiten besteht. In den eukaryotischen Zellen assoziiert das 20S Proteasom mit ein oder zwei regulatorischen Komplexen aus jeweils 19 Untereinheiten. Sie erkennen und binden abzubauen Proteine, entfalten diese und transportieren sie ins Innere des 20S Proteasoms.

End of the line for proteins:  
The 26S proteasome is a large molecular machine that degrades defective or redundant proteins. The degradation is carried out by the core module, the 20S proteasome, which has a conserved structure of 28 subunits in all organisms from prokaryotes to higher eukaryotes. In eukaryotic cells the 20S proteasome associates with one or two regulatory complexes of 19 subunits each. They recognize and bind proteins that are to be degraded, unfold and transfer them into the inner chambers of the 20S proteasome.

#### Prof. Dr. Wolfgang Baumeister

1973 PhD in Biology, University of Düsseldorf, Germany  
1973 – 1980 Research Associate, Dept. of Biophysics, University of Düsseldorf, Germany  
1978 Habilitation in Biophysics, University of Düsseldorf, Germany  
1981 – 1982 Heisenberg Fellowship, University of Cambridge, UK  
1983 – 1988 Head of the Research Group "Molecular Structural Biology" at the MPI of Biochemistry, Martinsried  
Since 1988 Director of the Department "Molecular Structural Biology" at the MPI of Biochemistry, Martinsried  
Since 2000 Honorary Professor of Chemistry and Physics, TU Munich, Germany

Wolfgang Baumeister has been honored with numerous awards for his research including the Otto Warburg Medal of the German Society for Biochemistry and Molecular Biology (1998), the prize of the Geneva-based Louis-Jeantet Foundation for Medicine (2003), the Ernst Schering Prize (2006), the Schleiden Medal of the German Academy of Sciences Leopoldina (2005) and the Harvey Prize in Science and Technology of the Technion, Haifa (2005).

#### Selected Publications

Jasnin M, Asano S, Gouin E, Hegerl R, Pitzko JM, Villa E, Cossart P and Baumeister W (2013). "Three-dimensional architecture of actin filaments in *Listeria monocytogenes* comet tails" PNAS 110, 20521-20526.  
Lucic V, Rigort A and Baumeister W (2013). "Cryo-electron tomography: The challenge of doing structural biology in situ" J. Cell Biol. 202, 407-419.  
Lasker K, Förster F, Bohn S, Walzhoeni T, Villa E, Unverdorben P, Beck F, Aebersold R, Sali A and Baumeister W (2012). "Molecular architecture of the 26S proteasome holocomplex determined by an integrative approach" PNAS 109, 1380-1387.

#### Project Leaders

Dr. Radostin Danev, Dr. Harald Engelhardt, Dr. Rubén Fernández Busnadiago, Dr. Vladan Lucic, Dr. István Nagy, Dr. Julio Ortiz, Dr. Eri Sakata